

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-226394

(P2002-226394A)

(43) 公開日 平成14年8月14日 (2002.8.14)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テグワード (参考)
A 6 1 K 38/00		A 2 3 J 7/00	4 B 0 1 7
A 2 3 J 7/00		A 2 3 L 1/305	4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/305		A 6 1 K 31/685	4 C 0 8 4
2/52		31/688	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/685		35/20	4 C 0 8 7

審査請求 未請求 請求項の数14 O L (全 9 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-26006 (P2001-26006)

(22) 出願日 平成13年2月1日 (2001.2.1)

(71) 出願人 000006138

明治乳業株式会社

東京都江東区新砂1丁目2番10号

(72) 発明者 桑 久枝

神奈川県小田原市成田540 明治乳業株式
会社栄養科学研究所内

(72) 発明者 佐々木 一

神奈川県小田原市成田540 明治乳業株式
会社栄養科学研究所内

(72) 発明者 水本 憲司

神奈川県小田原市成田540 明治乳業株式
会社栄養科学研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脂質代謝改善組成物

(57) 【要約】

【課題】 本発明は、単一では強い脂質代謝改善作用を示さない食品成分を、脂質代謝改善作用を高めるために、それら食品成分の組み合わせ組成物を見出すことを課題とする。

【解決手段】 ホエイタンパクおよびリン脂質を組み合わせると、これらを単独で用いるよりも、血清および肝臓の総コレステロールおよび肝臓中性脂肪が低下することを発見した。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物とリン脂質との組み合わせからなる脂質代謝改善組成物。

【請求項2】 ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物とリン脂質との組み合わせ重量比が9:1〜1:9である請求項1記載の脂質代謝改善組成物。

【請求項3】 ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物とリン脂質との組み合わせ重量比が5:1である請求項2記載の脂質代謝改善組成物。

【請求項4】 ホエイタンパク質がホエイタンパク質分離物(WPI)である請求項1〜3のいずれか1項記載の脂質代謝改善組成物。

【請求項5】 リン脂質が、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、およびスフィンゴミエリンを主成分として含有する請求項1または2記載の脂質代謝改善組成物。

【請求項6】 リン脂質が牛乳由来である請求項5記載の脂質代謝改善組成物。

【請求項7】 脂質代謝改善作用が血清総コレステロールの上昇抑制または低下ならびに肝臓コレステロールおよびトリグリセリドの上昇抑制または低下に代表される請求項1〜6のいずれか1項記載の脂質代謝改善組成物。

【請求項8】 脂質代謝改善作用が高脂血症、高コレステロール血症、または高トリグリセリド血症の予防または改善である請求項7記載の脂質代謝改善組成物。

【請求項9】 請求項1〜8のいずれか1項記載の脂質代謝改善組成物を含有する飲食品。

【請求項10】 機能性食品、栄養補助食品、または特別用途食品である請求項9記載の飲食品。

【請求項11】 特別用途食品が病者用食品、高齢者用食品、または特定保健用食品である請求項10記載の飲食品。

【請求項12】 脂質代謝改善作用を有する飲食品を製造するための請求項1〜8のいずれか1項記載の脂質代謝改善組成物の使用。

【請求項13】 飲食品が機能性食品、栄養補助食品、または特別用途食品である請求項12記載の使用。

【請求項14】 特別用途食品が病者用食品、高齢者用食品、特定保健用食品である請求項13記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】 本発明は、脂質代謝改善組成物、該組成物を含有する脂質代謝改善用飲食品、および該飲食品を製造するための該組成物の使用、に関する。

【0002】

【従来の技術】 近年、日本人の生活環境は変化し、特に食生活においては欧米型の高カロリー、高脂肪の時代に

なり、さらに運動量の減少も加わり、体内のエネルギー収支のアンバランスによるエネルギー蓄積状態からインスリン抵抗性を形成している。エネルギー蓄積状態からインスリン抵抗性それぞれの危険因子は重症でないにしても、重複することにより、2型糖尿病、肥満、高血圧、高脂血症を代表例とする「シンドロームX」、「インスリン抵抗性症候群」、「内臓脂肪症候群」などと呼ばれる病態が増加している。このうち、高コレステロール血症を代表とする高脂血症は、虚血性疾患などの動脈硬化性疾患の危険因子とされている。このような背景のもと、食事による血清脂質の改善に高い関心が寄せられており、食品成分中の脂質代謝を調節する機能性因子が探索され、現在、大豆タンパク質、キトサン、低分子アルギン酸ナトリウム、植物ステロール入りジシアリグリセロールなどが血清コレステロールの上昇を抑える特定保健用食品の成分として認可されている。また、ホエイタンパク質あるいはその加水分解物が血清コレステロールを低減させる作用を有すること（特開平5-176713および特開平6-165655）やレシチンが血清トリグリセリド、総コレステロールを低下させ、HDLコレステロールを高めることが多数報告されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 食品成分の中には上記したように、脂質代謝を調節する機能性食品因子が多く含まれるが、これらには単一で強い脂質代謝活性を示すものはない。なんらかの方法で脂質代謝機能を増強することが今後の「食事による血清脂質の改善」という課題を解決するのに不可欠である。

【0004】 そこで、本発明は、単一では強い脂質代謝改善作用を示さない食品成分を、通常の食生活で摂取した場合に、脂質代謝改善作用を示すような食品成分の組み合わせ組成物を見出すことを課題とする。また、本発明は、該組成物を含む脂質代謝改善作用を有する食品を提供することを課題とする、さらにまた、本発明は、脂質代謝改善作用を有する食品を製造するための該組成物の使用を提供することを課題とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、高コレステロール飼料をラットに摂取させ、体内コレステロールを高め、その後、すでに脂質代謝改善作用を有することが知られているホエイタンパク質分離物(WPI)を添加した飼料、本発明者らにより脂質代謝改善作用を有することが明らかにされた乳由来のリン脂質を添加した飼料、あるいはWPIおよびリン脂質をともに添加した飼料でラットを飼育した。その結果、WPIおよび乳由来のリン脂質をともに添加した飼料で飼育したラットにおいて、血清総コレステロールの低下、とくに、LDLコレステロールの割合の低下とHDLコレステロールの割合の上昇が、WPIあるいは乳由来のリン脂質のみを添加した飼料で飼育したラットにおけるよりも優れていた。

さらに、高コレステロール飼料と、WPIおよび乳由来のリン脂質を食品に添加可能な濃度で含有する飲み水で飼育したラットにおいても、上記と同様に、血清総コレステロールの低下、とくに、LDLコレステロールの割合の低下とHDLコレステロールの割合の上昇が確認された。

【0006】すなわち、本発明は、(1)ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物とリン脂質との組み合わせの重量比が、9:1~1:9でからなる脂質代謝改善組成物を提供する、(2)上記脂質代謝改善組成物を含有する飲食品、とりわけ好ましい飲食品として機能性食品、栄養補助食品、または特別用途食品を提供する、そして(3)上記飲食品を製造するための上記脂質代謝改善組成物の使用を提供する。

【0007】本発明の、ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物とリン脂質を有効成分として含有する脂質代謝改善組成物は、LDLコレステロールの低下とHDLコレステロールの上昇、およびHDLコレステロール/総コレステロール比の改善などを内容とする血清総コレステロールの低下あるいは上昇抑制作用、ならびに肝臓コレステロールおよびトリグリセリドの低下あるいは上昇抑制作用による脂質代謝改善作用を示す。該組成物は、食品に添加可能な濃度で脂質代謝改善作用を示すので、食品、とくに機能性食品、あるいは特別用途食品などにご有効量を添加して、脂質代謝改善作用を有する食品とすることができる。また、食品添加物としても使用可能であり、さらに、医薬品などにも添加することもできる。

【0008】

【発明の実施の形態】リン脂質は、生体膜系を構成する主要な脂質であり、その構成成分により、グリセロール骨格を有するグリセロリン脂質(ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトール)と、スフィンゴシンを骨格とするスフィンゴリン脂質(スフィンゴミエリン)に分類される。本発明において、「リン脂質」という用語は、これらリン脂質のみならずそれらの衍生物も、本発明の脂質代謝改善作用を有するものは全て含まれる。

【0009】牛乳中の大部分の脂質は脂肪球の形で分散している。脂肪球を被覆している膜は乳脂肪球皮膜(Milk Fat Globular Membrane: MFQM)と呼ばれ、脂肪と水の界面を形成している。リン脂質はMFQMのみに局在し、コア脂質には存在しない。MFQMから分離したスキムミルク膜成分にも存在する。牛乳中のリン脂質含量は、牛乳1リットル当たり0.3~0.4gで、これは、全脂質の1%に当たる。その組成は、ホスファチジルコリン34.5%、ホスファチジルエタノールアミン31.8%、スフィンゴミエリン25.2%、ホスファチジルセリン3.1%、ホスファチジルイノシトール4.7%で、その特徴は、スフィンゴミエリンの比率が高く、リン酸コリン物質が全体の52~60%を占めていること(菅野長右門,「ミルク総合

事典」, 山内邦男, 横山健吉 編, p41, (株)朝倉書店(1992))である。

【0010】本発明の目的に用いるリン脂質は、哺乳動物由来のリン脂質が好ましく、とりわけ牛乳由来のリン脂質が好ましい。牛乳由来のリン脂質は、バター製造の際に副生するバターミルクやチーズ製造の際に副生するホエー、あるいは脱脂乳から、公知の方法[「脂質の化学(生化学実験講座3)」, 日本生化学会編, p23, 東京化学同人, 1974; 「脂質II リン脂質(生化学実験講座4)」, 日本生化学会編, p7, 東京化学同人, 1991]に準じて、溶媒抽出、あるいは該抽出物を各種クロマトにより分離したものを含む。例えば、クリームまたはバターから、バターオイルを製造する際の副産物であるバターゼラム(Butter Serum)から溶媒アセトン不溶画分として得たものを含む。バターゼラムは、市乳関係でも利用されており、入手可能である(例えばベルギーCorman社製)。バターゼラムは、リン脂質が局在するMFQMを含み、リン脂質抽出の原料として好適である。

【0011】バターゼラムから、リン脂質を分離するには、リン脂質がアセトンに不溶であるという性質を利用する。複数回のアセトン抽出により、中性脂質を含むアセトン可溶画分を除去し、リン脂質が濃縮されたアセトン不溶画分を得る。このアセトン不溶画分を減圧濃縮してアセトンを除去する。濃縮物を殺菌後凍結乾燥する。乾燥物を粉砕して牛乳由来のリン脂質の濃縮物を得る。このようにして得られたリン脂質画分の組成の一例を示すと、リン脂質8% (重量%) を含み、その主要組成は、ホスファチジルコリン40%、ホスファチジルエタノールアミン7%、スフィンゴミエリン20%である。このリン脂質組成は、原料となる乳や採用する分画方法により変動しうる。

【0012】本発明においては、上記牛乳由来のリン脂質の他、例えば、一般の哺乳動物の乳由来のリン脂質、卵黄、あるいは大豆のリン脂質(レシチン)なども含まれる。ここで「レシチン」とは、化学的にはホスファチジルコリンを意味するが、通常、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトール、およびホスファチジン酸の4種および他のリン脂質の混合物をレシチンと呼んでいる。乳由来のリン脂質の脂質改善作用は、その主成分であるホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリンなどの各種リン脂質の混合物による効果とも考えられるが、これら各種リン脂質を分画したリン脂質も包含される。

【0013】例えば、これらの混合物を溶媒法、あるいはカラム法[「脂質の化学(生化学実験講座3)」, 日本生化学会編, p23, 東京化学同人, 1974; 「脂質II リン脂質(生化学実験講座4)」, 日本生化学会編, p7, 東京化学同人, 1991]にて分画することができる。リン脂質分画には、例えば、吸着クロマトグラフィーとイオン

交換クロマトグラフィーが用いられる。吸着剤としては、例えば、ケイ酸、フロリジル（ケイ酸マグネシウム）、アルミナなどが、また、イオン交換体としては、例えば、DEAE（ジエチルアミノエチル）セーロース、TEAE（トリエチルアミノエチル）セーロース、などが用いられる。

【0014】すなわち、本発明により、これらのリン脂質が本発明のホエイタンパク質あるいはその分解物との組み合わせ候補として有効かどうか試みる動機が与えられる。当業者は、これらのリン脂質について、後述する実験系やその他公知の脂質代謝実験系によりその有効性を調べることは容易である。そこで有効な脂質代謝作用を有すると判定されたリン脂質は本発明のホエイタンパクとの組み合わせに用いることができる。

【0015】一方、ホエイ（whey）または乳清とは、牛乳から脂肪、カゼイン、脂溶性ビタミンなどを除去した際に残留する水溶性成分をいうが、一般的には、チーズ製造の際に副産物として得られるチーズホエイ（またはスイートホエイともいう）および脱脂乳からカゼインを製造する際に得られるカゼインホエイをいう。ホエイの主成分は、タンパク質（主成分はβ-ラクトグロブリンとα-ラクトアルブミン）、乳糖、および脂類であり、それぞれの特徴等は、ホエイ成分としてよりも乳成分として乳の研究のなかで明らかにされている。「ホエイ関連製品」としては、ホエイを濃縮・乾燥したホエイパウダー、ホエイを限外濾過（Ultrafiltration: UF）で濃縮後乾燥したホエイタンパク質濃縮物（Whey Protein Concentration: WPC）、ホエイ中の脂肪を除去した後、UF濃縮した脱脂WPC（低脂肪で高タンパク質）、ホエイからタンパク質のみを選択的に分離したホエイタンパク質分離物（Whey Protein Isolate: WPI）、ナノフィルトレーション濃縮した脱塩ホエイ、ホエイ由来のミネラル成分が濃縮されたミネラル濃縮ホエイ、などが挙げられる。これらのうち、タンパク質を乾燥重量として15%から80%含むWPIは、平成10年3月30日、乳等省令の一部改正により乳製品として定義された（ホエイパウダーおよびWPCについて、乳等省令に規定する製造工程を経たものであれば脱塩工程の有無にかかわらず）。

【0018】ここで、本発明に用いることのできる「ホエイ関連製品」は、上記のうち、とくにWPIが好ましいと考えられるが、その他の「ホエイ関連製品」についても、リン脂質との組み合わせで本発明の脂質代謝改善作用を有するかどうかは、当業者であれば、上記したように容易に調べることができる。したがって、そこで本発明の脂質代謝改善作用を有すると判断された「ホエイ関連製品」は当然本発明に包含される。

【0017】さらに、「ホエイ関連製品」としては、例えば、ホエイタンパク質の酵素あるいは酸処理による加水分解物も、リン脂質との組み合わせで本発明の脂質代謝改善作用を有する限り、本発明に包含される。酵素に

よる加水分解処理は公知（例えば特開平6-165655あるいは特開平5-176173参照）である。すなわち、使用する酵素としては、例えば、ババイン、フィシン、プロメライン、トリプシン、キモトリプシン、ズブリン、カリクレイン、ペプシン、パンクレアチン、などの市販の酵素や、酵母由来のカルボキシペプチダーゼ、乳酸菌由来のアミノペプチダーゼなどが挙げられ、これらを単一あるいは組み合わせで試みることができる。酵素処理条件（例えば、基質の濃度、酵素量、処理温度、pH、あるいは時間など）は、当業者であれば、実験により最適なまたは好適な条件を設定することが容易であり、通常の創作能力の範囲内である。例えば、酵素としてトリプシンを用い、基質としてWPIを用いた場合の処理条件は、基質濃度が10%以下好ましくは3~5%、酵素添加量が基質タンパクに対して0.1~10%好ましくは1~5%、pHが5~9好ましくは7~8、温度が35~45℃好ましくは37~43℃、処理時間約1時間前後、である。得られた加水分解物は種々の分子量を有するペプチド混合物であってもよい。分子量分布は10,000以下、好ましくは5,000以下である。

【0018】酸による場合、例えば、ホエイタンパク質を0.1~20%、好ましくは5~15%の濃度の水溶液とし、これに酸、例えば0.5~5%濃度の塩酸を5~100倍量添加し、70~120℃で0.5~10時間反応させる。次いで反応液をカセイソーダなどで中和し、冷却し、必要に応じて常法により脱色、濾過、脱塩、濃縮、乾燥する。

【0019】本発明の脂質代謝改善作用を有する加水分解物の分解率については、当業者であれば、実験により最適なまたは好適な条件を設定することが容易であり、通常の創作能力の範囲内である。分解率は、例えばホルモール滴定法によって、全窒素量に対するホルモール窒素量の百分率として算出することができる。

【0020】また、「ホエイ関連製品」としては、ホエイタンパク質の分離物、例えば、β-ラクトグロブリンやα-ラクトアルブミン、あるいはこれら分離物の加水分解物、さらには、ホエイの限外濾過濃縮物をゲル濾過して最初に出出てくる画分（ウインド1画分：特開平11-243916公開公報）、あるいは本発明の脂質代謝改善作用を有する限り本発明に包含される。上記これらの「ホエイ関連製品」は、さらに精製して用いることにより、脂質代謝活性の向上が期待できる。

【0021】本発明の組成物は、ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物と乳由来のリン脂質との組み合わせ割合（重量比）は、9:1~1:9、好ましくは7:3~3:2、あるいは5:1と推定されるが、当業者であれば、実験により最適な組み合わせ割合を決定することが容易にできる。本発明における「組成物」という用語は、ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物と乳由来のリン脂質との混合物を含み、均一物および不均一物を含む。さらに不

7

植物が含まれていてもよい。また一部結構物を形成していてもよい。ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物とリン脂質とを、脂質代謝改善の目的で食品に含有させる場合、その合計含有量(重量%)は、0.1~50%と推定できるが、当業者であれば、実験により最適な含有量を決定することが容易にできる。言うまでもないことであるが、ホエイタンパク質および/または該ホエイタンパク質加水分解物とリン脂質組成物とからなる組成物として食品素材に添加してもよくあるいはこれらを種々に添加してもよい。

【022】加対象の食品はとくに限定されないが、栄養補助食品、健康食品、機能性食品、特別用途食品などの他、新設予定の栄養機能食品が挙げられる。特別用途食品は、現在、病者用食品（許可基準型と個別許可型）、妊産婦、授乳婦用食品、乳児用調製食品、高齢者用食品、および特定保健用食品に分類されているが、本発明においては、病者用食品（許可基準型と個別許可型）、高齢者用食品、および特定保健用食品が加対象として好ましく考えられる。

[0023]

【実施例】以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0024】〔実施例1〕 乳由来のリン脂質の製造
 バターゼラムから含水エタノール抽出して得られた粗脂肪（リン脂質含量が約4.5重量%）をセトレンに懸濁し、上清のセトレン可溶性画分（主として中性脂肪を含む）を吸引除去して、セトレン不溶性画分（主としてリン脂質を含む）を得た。このセトレン処理を4回行した後、セトレン不溶性画分を水分に分散させ、減圧濃縮機を用いて大部分のセトレンを除去した。次いで分散液をタンクでバッチ殺菌した後、凍結乾燥した。乾燥物は粉砕して試験に供した。この乾燥物の組成は、リン脂質85%を含み、その主要成分は、ホスファチジルコリン40.9%、ホスファチジルエタノールアミン7.0%、スフィンゴミエリン20.2%であった。

【0025】〔実施例2〕 ホエイタンパク質とリン脂質の脂質代謝改善作用

1. 実験動物および実験飼料
週齢のSprague-Dawley系の雄ラットを日本チャールズリバー(株)より購入し、表1に示す高コレステロール飼料(高Chol)で7日間予備飼育した後後尾静脈より採血し、体重および血清コレステロール値により以下4群(n=6)の実験動物群に分けた。

(1) 高Chol(対照群)、(2) 高Chol飼料中のカゼイン(14%)の全量をWPI(ダビスコ(株))で置換した飼料(WPI群)、(3) 高Chol飼料中のコーンスターチの5%を生乳由来のリン脂質で置換した飼料(リン脂質群)。お

よび(4) ChOI飼料中のカゼイン(14%)の全量をWPI置換し、さらにコーンスターチの5%を牛乳由来のリン脂質で置換した飼料(WPI+リン脂質群)、とし、10日間飼育した。なお、実験期間中、飼料と飲料水は自由摂取とした。

[0026]

【表1】

表1 高コレステロール飼料組成(重量%)

成分	
カゼイン	14.0
セルロースパウダー	5.0
コーンスターチ	50.9
シュエクロース	10.0
コレステロール	1.0
コール酸ナトリウム	0.2
大豆油	4.0
ラード	10.0
ミネラル混合物	3.5
ビタミン混合物	1.0
その他	0.4
	100.0

20 【0027】2. 測定項目および測定方法

実験期間中各ラットの体重、飼料摂取量を測定した。実験期間の終了日の朝に飼料を取り除き、その4時間後に、エチルエーテル麻酔下で動脈から採血し、肝臓を摘出した。

(1) 血清脂質分析

血清中の総コレステロール、コレステロールエステル、遊離コレステロール、およびトリグリセリドの測定は酵素法キット（湘南和光（株））を用いて測定した。LDLコレステロールは、酵素法キット（第一化学薬品（株））、HDLコレステロールは選択阻害法（第一化学薬品（株））を用いて測定した。有意差検定はFisherPLSDを用いた。有意差が認められるものは異なる肩文字で示した。

(2) 肝臟脂質分析

肝臓からFolchらの方法に従い脂質を抽出し、窒素で溶媒を留去後、総脂質量を測定した。また、総脂質中の脂質成分は、イサトロスキャンで定量分析した。

1. 次展開溶媒はクロロホルム：メタノール：水=50:20:2.5、そして2次展開溶媒はヘキサン：ジエチルエーテル：磷酸=65:5:0.15を使用した。

(3) 統計処理

実験データは平均値±SEMで示した。結果の統計解析は、ScheffeあるいはFisherのPLSD($p < 0.05$)を用いた。有意差が認められるものは異なる肩文字で示した。

4 結果

(1) 血中の脂質濃度の変化を結果を表2に示した

[0028]

【表2】

表2 血清中の脂質濃度変化

	対照群	WPI	ワシ質	WPI+ワシ質
体重(g)	333.7 ± 12.4	309.3 ± 8.9	308.8 ± 2.8	313.6 ± 10.6
飼料摂取量(g/10日)	194.1 ± 9.5*	159.6 ± 6.8*	155.3 ± 6.3*	156.4 ± 13.0*
肝重量/体重 × 100	6.1 ± 0.3*	6.3 ± 0.2*	5.2 ± 0.2*	5.8 ± 0.3*
血清(mg/100ml)				
総Chol(a)	193.2 ± 17.2	152.0 ± 6.8*	156.1 ± 10.8*	146.0 ± 15.2*
HDL-Chol(b)	21.5 ± 1.8*	26.2 ± 1.1*	23.3 ± 0.9*	28.8 ± 1.4*
(b)/(a) × 100	11.6 ± 1.4*	17.4 ± 1.0*	15.4 ± 1.4*	20.6 ± 1.8*
LDL-Chol	70.2 ± 6.5*	49.5 ± 3.3*	57.2 ± 4.3*	45.8 ± 6.6*
LDL/HDL*	76.4 ± 17.0	62.3 ± 8.5	62.7 ± 6.5	67.3 ± 6.1

平均 ± SEM(n=6), FisherのPLSD(p < 0.05); 同一層文字は有意差を示さない。

【0029】総コレステロール(総Chol)は、WPI群およびリン脂質+WPI群では、対照群に比較して有意に低下し、リン脂質群では低下傾向がみられた。総Cholに占めるHDL-Cholの割合は、対照群と比較して、WPI群およびリン脂質+WPI群では有意に上昇し、とくにリン脂質+WPI群ではその程度が顕著であった。一方、LDL-Cholは、WPI群およびリン脂質+WPI群では、対照群に比

較して有意に低下し、リン脂質群では低下傾向がみられた。トリグリセリドは、WPI群、リン脂質群、およびリン脂質+WPIで低下傾向がみられた。

(2) 肝臓中の脂質量の変化を表3に示した。

【0030】

【表3】

表3 肝臓中の脂質濃度変化(mg/g Liver)

	対照群	WPI	ワシ質	WPI+ワシ質
総脂質量	178.6 ± 3.4*	147.0 ± 6.2*	124.2 ± 3.4*	125.4 ± 4.4*
トリグリセリド	92.0 ± 4.2*	79.7 ± 3.5*	67.5 ± 1.8*	60.8 ± 4.5*
ワシ質	28.0 ± 5.0*	13.9 ± 1.2*	8.1 ± 0.8*	7.6 ± 1.5*

平均 ± SEM(n=6), Scheffé(p < 0.05); 同一層文字は有意差を示さない。

【0031】肝臓総脂質は、WPI群、リン脂質群、およびWPI+リン脂質群のいずれも、対照群に比較して有意に低下したが、リン脂質群およびWPI+リン脂質群はWPI群よりも低下の程度が顕著であった。コレステロールエステルで代表される肝臓コレステロールは、対照群に比較して、リン脂質群およびWPI+リン脂質群で有意に低下したが、WPI+リン脂質群ではその程度がリン脂質群に比較してやや強かった。WPIは対照群に比較して低下傾向がみられた。トリグリセリドは、WPI群、リン脂質群、およびリン脂質+WPI群のいずれも、対照群に比較して有意に低下したが、WPI+リン脂質群はWPI群およびリン脂質群よりも低下の程度が顕著であった。

【0032】以上の結果から、高Chol飼料摂取により体内のChol濃度が上昇したラットに、WPIとリン脂質を含む高Chol飼料を与ると、HDL-Cholの上昇とLDL-Cholの低下を含む血清総コレステロールの低下および肝臓コレステロールの低下、ならびに肝臓中性脂肪の低下あるいは上昇抑制をもたらすことが明らかとなった。このような優れた脂質代謝改善作用は、WPIあるいはリン脂質単独ではみられなかった。

【0033】【実施例3】 食品添加濃度におけるホエイタンパク質とリン脂質の脂質代謝改善作用
牛乳由来リン脂質とWPIを共に含む飼料は、これらを単独に含む飼料よりも優れた血清脂質および肝臓蓄積脂質の代謝改善効果を有することが明らかとなった。そこで、これらを食品に含ませることにより、日常の食生活

をつうじて脂質代謝改善による高脂血予防などが期待できる食品の開発のために、牛乳由来リン脂質とWPIについて、食品に添加可能な濃度での血清および肝臓脂質代謝改善作用を調べた。

1. 実験動物

- 30 6週齢のSprague-Dawley系の雄ラット(日本チャールズリバー(株))を、高Chol飼料(表1)のコレステロール1.0%を0.5%とし、コーンスターチを50.9%を51.4%と変更した高Chol飼料で6日間予備飼育後、コレステロール値により2群(n=8)に分けた。

2. 実験スケジュール

(1) 実験1

- 実験群には上記高Chol飼料ならびに5%WPIおよび1%リン脂質を含む水(WPI+リン脂質)を、対照群には高Chol食および何も含まない水を、それぞれ6日間自由摂取させた。期間中各ラットの体重、飼料及び水の摂取量を測定した。6日目に尾静脈より採血し血清総コレステロールを測定した。結果、6日間の体重増加量は、実験群が52.6 ± 4.5g、対照群が51.5 ± 3.5gであり、両群間にはほとんど差はみられなかった。高Chol飼料の6日間の摂取量は、実験群が102.5 ± 2.8g、対照群が127.8 ± 7.2gであり、実験群は対照群に比較して摂取量が約20%減少していた。一方、飲み水の摂取量は、実験群が127.4 ± 9.1ml、対照群が94.9 ± 4.1ml、実験群が約30%以上多かった。両群における高Chol飼料と水の摂取量からタンパク質量およびその他の成分を算出すると、タンパク質量に

ついては、実験群は対照群に比較して摂取量が増加しており、タンパク以外の成分の摂取量は実験群で減少していた。血清総コレステロール濃度は、実験群は対照群に比べ低下傾向にあった(図1)。これらの結果から、5WPI I+1%リン脂質を含む水は、血清総コレステロールを低下させる作用があることが示唆された。しかし、飼料摂取量の減少によるコレステロール、ラード、およびコラーゲンの摂取量の減少が原因である可能性も否定できない。

(2) 実験2

そこで、次の6日間は、実験群および対照群ともに、高Chol飼料および何も含まない水、に切り替えた。その結果、両群の血清コレステロールはほとんど差がないレベルまで上昇した(図2)。

(3) 実験3

そこで、実験1での、実験群の高Chol飼料の摂取量が約20%減少した結果に基づき、対照群の飼料として、タンパク含量は変えずにタンパク質以外の成分を一律80%とした飼料(表4)を調製した。

【0034】

【表4】

表5 飼料摂取量

	対照群	実験群
餌の摂取量(g)	189.3 ± 6.9	150.3 ± 3.5
飲料の摂取量(ml)	188.3 ± 5.2	232.9 ± 10.9
成分組成(g)		
カゼイン	26.50 ± 0.97	21.04 ± 0.49
WPI		11.65 ± 0.55
リン脂質		2.33 ± 0.11
セルロースパウダー	7.57 ± 0.28	7.52 ± 0.18
コーンスターチ	110.36 ± 4.02	77.25 ± 1.80
シュクロース	15.14 ± 0.55	15.03 ± 0.35
コレステロール	0.76 ± 0.03	0.75 ± 0.02
コラーゲンナトリウム	0.30 ± 0.01	0.30 ± 0.01
大豆油	6.06 ± 0.22	6.01 ± 0.14
ラード	15.14 ± 0.55	15.03 ± 0.35
ミネラル混合物	5.30 ± 0.19	5.26 ± 0.12
ビタミン混合物	1.51 ± 0.06	1.50 ± 0.04

【0037】9日目までの体重の増加量は両群間にはほとんど差がみられず(図3)。摂取した飼料の成分組成も両群間にほとんど差がみられなかった(表5)。9日目の朝に飼料を取り除き、その4時間後に、エチルエーテル麻酔下で動脈から採血し、肝臓を摘出した。血清中の総コレステロール、コレステロールエステル、遊離コレステロール、およびトリグリセリドの測定は酵素法キット(和光純薬(株))を用いて測定した。LDL-Cholは酵素法キット(第一化学薬品(株))、HDL-Cholは選択阻害法(第一化学薬品(株))を用いて測定した。肝機能の指標であるAST(GOT)、ALT(GPT)、およびLDHの測定は酵素法キット(和光純薬(株))を用いて測定した。両群間の有意差検定はStudent's t検定を用いた。結

表4 対照群の飼料組成(重量%)

成分	重量%
カゼイン	14.0
セルロースパウダー	4.0
コーンスターチ	58.3
シュクロース	8.0
コレステロール	0.4
コラーゲンナトリウム	0.16
大豆油	3.2
ラード	8.0
ミネラル混合物	2.8
ビタミン混合物	0.8
その他	0.34
100.0	

【0035】実験群には、高Chol飼料および5WPI+1%リン脂質を含む水を、対照群には表4の飼料および何も含まない水を、それぞれ9日間自由摂取させた。期間中、各ラットの体重、飼料及び飲み水の摂取量を測定した(表5)。

【0036】

【表5】

果、実験群において血清総コレステロール(図5)、LDL-Chol(図6)、およびトリグリセリド(図7)は対照群に比較して有意に低下した。一方、HDL-Chol/総Cholは、実験群において有意に上昇した(図8)。その他、血清中のコレステロールエステル、遊離コレステロール、およびリン脂質はいずれも実験群で有意に低下した(データは示さない)。一方、両群間での肝重量にはほとんど差がみられなかった(図4)。また、肝機能の指標であるGOT、GPT、およびLDHは、両群間ではほとんど差は認められなかった(データは示さない)。以上の結果から、WPIとリン脂質は食品の添加可能な濃度で、LDL-Chol低下を含む血清総コレステロールの低下作用、総Chol中のHDL-Chol上昇作用、およびトリグリセリド低下作用

に代表される優れた血脂脂質代謝改善作用を有することが明らかとなった。

【0038】

【発明の効果】本発明により、ホエイタンパク質およびリン脂質を組み合わせると、これらを単独で用いた場合よりも血清および肝臓における脂質改善が高められることが見出された。ホエイタンパク質およびリン脂質は食品に添加可能な濃度においても、血清総コレステロールの低下作用を示すので、これらを食品に添加することにより、日常の食生活のなかで、高コレステロール血症を代表とする高脂血症や高トリグリセリド血症などの生活習慣病を予防あるいは改善することが期待できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 ラットを高コレステロール飼料で6日間予備飼育後群分けし、同飼料と5%WPIおよび1%乳由来リン脂質を含む水（WPI+リン脂質群）あるいは同飼料と水（対照群）に切り替え6日間飼育後、血清中の総コレステロールを測定した結果を示す図である。

*

*【図2】 さらに、続けて同上における2群を、高コレステロール飼料となにも含まない水に切り替え6日間飼育後、血清中の総コレステロール濃度を測定した結果を示す図である。

【図3】 さらに、続けて同上における2群を、高Chol飼料と5%WPIおよび1%乳由来リン脂質を含む水（WPI+リン脂質群）あるいは同飼料と水（対照群）に切り替え9日間飼育後の体重増加量/9日間を示す図である。

【図4】 同上における両群の肝重量を示す図である。

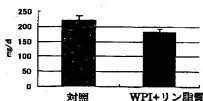
【図5】 同上における両群の血清中の総コレステロール濃度を示す図である。

【図6】 同上における両群の血清中のLDLコレステロール濃度を示す図である。

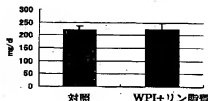
【図7】 同上における両群の血清中のトリグリセリド濃度を示す図である。

【図8】 同上における両群の血清中の総コレステロール中のHDLコレステロールの占める割合を示す図である。

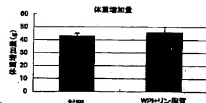
【図1】



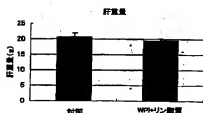
【図2】



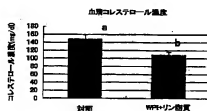
【図3】



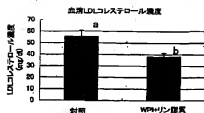
【図4】



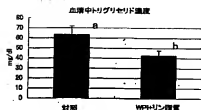
【図5】



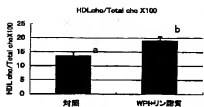
【図6】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

識別記号

F I

テーマコード (参考)

A 61 K 31/688

A 61 P 1/16

35/20

3/06

A 61 P 1/16

43/00

1 2 1

3/06

A 61 K 37/02

43/00

1 2 1

A 2 3 L 2/00

F

A 61 K 37/18

(72)発明者 山口 真

F ターム (参考) 4B017 LC03 UK10 UK15

神奈川県小田原市成田540 明治乳業株式
会社栄養科学研究所内

4B018 LB08 MD20 MD22 MD45 ME04

4C084 AA02 BA47 CA20 CA38 DC50

MA02 MA52 NA05 ZA75L

ZC33L ZC51L ZC52L ZC54L

4C086 AA01 AA02 DA40 DA42 MA52

NA05 ZA75 ZC33 ZC51 ZC52

ZC54

4C087 BB33 BB39 MA02 MA52 NA05

ZA75 ZC33 ZC51 ZC52 ZC54

BEST AVAILABLE COPY